

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Suscetibilidade Genética No Cancro

Cancro da Mama

Inês Sofia Henriques Feliz

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Suscetibilidade Genética No Cancro

Cancro da Mama

Inês Sofia Henriques Feliz

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientadora: Doutora Ana Rita Estrela Rodrigues Conde Silva Melo,
Professora Auxiliar**

2019

Resumo

As doenças oncológicas são uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, constituindo, atualmente, o obstáculo mais significativo ao aumento da esperança de vida. Por esse motivo, a sua prevenção tem sido um dos maiores desafios de saúde pública nos últimos anos. O cancro da mama é o que apresenta maior incidência e também o mais mortal entre as mulheres.

O cancro da mama pode ser hereditário ou esporádico. O cancro da mama hereditário representa cerca de 5 a 10 por cento de todas as neoplasias. Está relacionado com a existência de suscetibilidade herdada, ou seja, envolve diversas mutações germinativas em determinados genes, levando a um aumento significativo do risco de desenvolvimento de cancro em relação ao da população que não possua uma mutação no gene de suscetibilidade para o cancro. A grande maioria dos casos deve-se a uma mutação num dos genes altamente penetrantes do painel genético referente a este tipo de cancro – *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53*, *CDH1* e *STK11*. Para além destes, mutações em genes de penetrância moderada, como *PALB2*, *ATM*, *BRIP1* e *CHEK2*, também são responsáveis por casos de cancro da mama hereditário, embora em menor número.

Conhecer o risco genético de cancro é extremamente importante para aplicar medidas específicas de prevenção. Se estas forem aplicadas na prática clínica em indivíduos de elevado risco, é possível prevenir a doença ou diagnosticá-la precocemente. Para tal, é necessário realizar um teste genético que analisa todos os genes conhecidos por aumentar a predisposição para diversos tipos de cancro. Sabendo que, nestas patologias, o diagnóstico precoce é essencial, juntamente com tratamentos cada vez mais direccionados e personalizados, consegue-se atingir taxas de cura mais elevadas e também aumentar a qualidade de vida.

É importante ter conhecimento se o cancro foi causado por uma mutação herdada, pois tal poderá afetar as opções terapêuticas. Para o tratamento do cancro da mama metastático causado por mutações nos genes *BRCA1/2*, estão indicados inibidores das PARP.

Numa perspetiva futura, a crescente acessibilidade a estudos acerca do genoma poderá trazer novos conhecimentos para a modificação do risco de cancro da mama hereditário.

Palavras-chave: Cancro da mama, Cancro hereditário, Suscetibilidade genética, Mutação, *BRCA*

Abstract

Oncologic diseases are one of the main causes of morbidity and mortality in the world, constituting, nowadays, the most significant obstacle to increase life expectancy. For this reason, its prevention has been one of the biggest public health challenges in recent years. Breast cancer is the type of cancer with the highest incidence and it is also the deadliest among women.

Breast cancer can be hereditary or sporadic. Hereditary breast cancer represents around 5 to 10 percent of all cancers. This is related to an inherited susceptibility, in other words, it involves several germline mutations, increasing the risk of developing cancer compared to the population that does not have a cancer susceptibility gene mutation. A large majority of cases is caused by a mutation in high penetrance genes of the genetic panel for this type of cancer – *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53*, *CDH1* and *STK11*. In addition, mutations in moderate penetrance genes, such as *PALB2*, *ATM*, *BRIP1* and *CHEK2* are also responsible for hereditary breast cancer, but in less proportion.

Knowing the genetic risk of cancer is extremely important for applying specific prevention measures. If these measures are applied in clinical practice to high-risk individuals, the disease can be prevented or diagnosed early. This requires a genetic test that analyzes all genes known to increase to predisposition to various types of cancer. Knowing that early diagnosis is essential in these pathologies, along with targeted and personalized treatments, it's possible to achieve higher cure rates and to improve quality of life as well.

It is important to know if the cancer was caused by an inherited mutation as this may affect treatment options. PARP inhibitors are indicated for the treatment of metastatic breast cancer caused by mutations in the *BRCA1/2* genes.

In the future, the increasing availability of genome studies may bring new perceptions for the modification of the hereditary breast cancer's risk.

Keywords: Breast Cancer, Hereditary Cancer, Genetic Susceptibility, Mutation, *BRCA*

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Rita Conde, minha orientadora, pela sua disponibilidade para me orientar e esclarecer dúvidas ao longo da elaboração desta monografia. Agradeço também todo o apoio e sugestões que me ajudaram a realizar este trabalho.

À minha família, em especial aos meus pais e à minha irmã, por todo o apoio e amor e também por me terem ajudado a chegar até aqui porque sem eles não teria sido possível.

Ao meu namorado, por toda a força e motivação e sobretudo por ter estado sempre ao meu lado durante esta fase importante da minha vida.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, a instituição que me acolheu nestes últimos 5 anos. A todos os professores, colegas e amigos que me ajudaram e fizeram parte desta jornada.

Índice Geral

Resumo	3
Abstract	4
Agradecimentos	5
Símbolos e Abreviaturas	9
1. Introdução	10
1.1 Dados Estatísticos	10
1.1.1 Cancro no Mundo	10
1.1.2 Cancro em Portugal	12
1.2 Etiologia do Cancro	14
1.2.1 Fatores Genéticos e Ambientais	14
1.2.2. Papel da Mutagénese no Cancro	15
1.3 Danos e Vias de Reparação do ADN	15
2. Objetivos	16
3. Materiais e Métodos	16
4. Resultados e Discussão	17
4.1 Classificação do Cancro da Mama	17
4.1.1 Padrão de Expressão Genética	17
4.1.2 Estadiamento	19
4.2 Cancro da Mama Hereditário	23
4.3 Painéis Genéticos	24
4.3.1 Genes de Elevada Penetrância	27
4.3.1.1 <i>BRCA1</i> e <i>BRCA2</i>	27
4.3.1.2 <i>TP53</i>	28
4.3.1.3 <i>PTEN</i>	29
4.3.1.4 <i>STK11</i>	29
4.3.1.5 <i>CDH1</i>	30
4.3.2 Genes de Penetrância Moderada	30
4.3.3 VUS	31
4.4 Impacto do teste genético – importância da intervenção psicológica	32
4.5 Rastreio e Profilaxia em indivíduos portadores de mutações	33
4.5.1 <i>BRCA1</i> e <i>BRCA2</i>	33
4.5.2 <i>TP53</i>	35
4.5.3 <i>PTEN</i>	35
4.5.4 <i>CHEK2</i> , <i>STK11</i> , <i>CDH1</i> , <i>PALB2</i> e <i>ATM</i>	36
4.6 Terapêutica Direcionada	36
5. Conclusões: Presente e Perspetivas Futuras	39
6. Referências Bibliográficas	41

Índice de Figuras

Figura 1 – Número estimado de novos casos de todos os tipos de cancro, em 2018, no mundo, em ambos os sexos e em todas as idades.....	11
Figura 2 – Número estimado de mortes devido a todos os tipos de cancro, em 2018, no mundo, em ambos os sexos e em todas as idades.....	11
Figura 3 – Número estimado de novos casos de cancro, em 2018, em Portugal, em ambos os sexos e em todas as idades	13
Figura 4 – Número estimado de mortes causadas por diversos tipos de cancro, em 2018, em Portugal, em ambos os sexos e em todas as idades.....	13
Figura 5 – Estudo sobre cancro da mama hereditário numa família de Nova Iorque, identificada com 3 mutações em 2 genes de predisposição para o cancro da mama	23
Figura 6 – Reparação de quebras na cadeia simples de ADN através de recrutamento de PARP.....	38
Figura 7 – Guidelines ESO-ESMO para cancro da mama triplo negativo, agosto 2018.....	40

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Classificação Molecular: Subtipos distintos do cancro da mama, baseados no padrão de expressão genética.....	18
Tabela 2A– Classificação TNM – Dimensão do Tumor.....	20
Tabela 2B – Classificação TNM – Atingimento dos Gânglios Linfáticos Regionais.....	21
Tabela 2C – Classificação TNM – Metástases à Distância	22
Tabela 3 – Agrupamento por diferentes estadios, após atribuição de classificação TNM.....	22
Tabela 4 – Pannel de Cancro da Mama Feminino e Masculino.....	26

Símbolos e Abreviaturas

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

DGPI – Diagnóstico Genético Pré-Implantacional

DGS – Direção-Geral da Saúde

EGFR – Recetor do Fator de Crescimento Epidérmico

EMA – *European Medicines Agency*

ESMO – *European Society for Medical Oncology*

ESTRO – *European Society for Radiotherapy and Oncology*

EUSOMA – *European Society of Breast Cancer Specialists*

ESO – *European School of Oncology*

GG-NER – *Global-Genome Nucleotide Excision Repair* [Reparação por Excisão de Nucleótidos do Genoma Global]

HER2 – Recetor do Fator de Crescimento Epidérmico Humano 2

IDH – Índice de Desenvolvimento Humano

MSREs – Moduladores Seletivos do Recetor de Estrogénio

NGS – *Next-Generation Sequencing* [Sequenciamento de Nova Geração]

PARP – Enzimas poli (ADP-ribose) polimerase

PI3K – Fosfatidilinositol-3-cinase

SNP - *Single Nucleotide Polymorphism*

TC - Tomografia computadorizada

TC-NER – *Transcription-Coupled Nucleotide Excision Repair* [Reparação por Excisão de Nucleótidos Acoplado à Transcrição]

VUS – Variante de Significado Desconhecido

1. Introdução

No cancro, ou neoplasia, ocorre crescimento anormal de células. As neoplasias podem ser classificadas como malignas ou benignas, sendo que as neoplasias malignas se diferenciam das benignas por terem capacidade de invadir estruturas vizinhas e de se metastizar até locais mais distantes do organismo (1).

O cancro da mama é uma doença maligna que tem origem nas células da mama. Os danos no ADN e as alterações hereditárias que podem levar ao cancro da mama estão normalmente associados à exposição de estrogénio. Alguns doentes herdaram mutações no ADN, em genes como o *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2* e outros mais (2).

O nosso organismo normalmente deteta células cancerígenas e células com ADN danificado e destrói-as. O cancro da mama resulta do mau funcionamento desta vigilância e defesa. Quando uma mutação ocorre em genes que estão envolvidos na codificação de vias de proteção, as células tornam-se incapazes de sofrer apoptose quando já não são necessárias, levando ao desenvolvimento de cancro (2).

Alguns genes são classificados como genes supressores de tumor uma vez que a perda da sua expressão permite o desenvolvimento tumoral (3). Por outro lado, também existem oncogenes cuja ativação está relacionada com o aparecimento de cancro devido ao aumento da proliferação celular. Esta ativação é um processo essencial na oncogénese de diversos tipos de cancro (4).

1.1 Dados Estatísticos

1.1.1 Cancro no Mundo

As doenças oncológicas são uma das principais causas de morbilidade e mortalidade no mundo, tendo surgido 18,1 milhões de novos casos e originado 9,6 milhões de mortes em 2018 (5,6). Atualmente, são consideradas o obstáculo mais significativo ao aumento da esperança de vida no mundo (6), sendo que a sua prevenção tem sido um dos maiores desafios de saúde pública nos últimos anos (7).

Na população mundial, incluindo ambos os sexos, o cancro da mama é a segunda neoplasia com maior incidência – 11,6% do total de casos –, a seguir ao cancro do pulmão, como é possível observar na Figura 1, e o quinto tipo de cancro com maior mortalidade – 6,6% do total de mortes por cancro (Figura 2) (6,8).

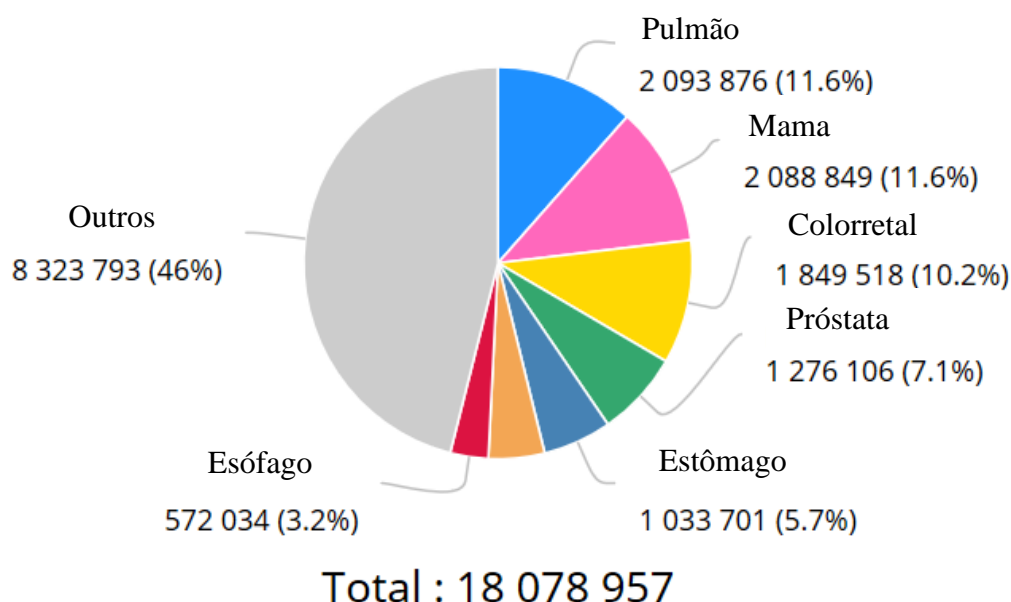


Figura 1 – Número estimado de novos casos de todos os tipos de cancro, em 2018, no mundo, em ambos os sexos e em todas as idades. Fonte: GLOBOCAN 2018 (8)

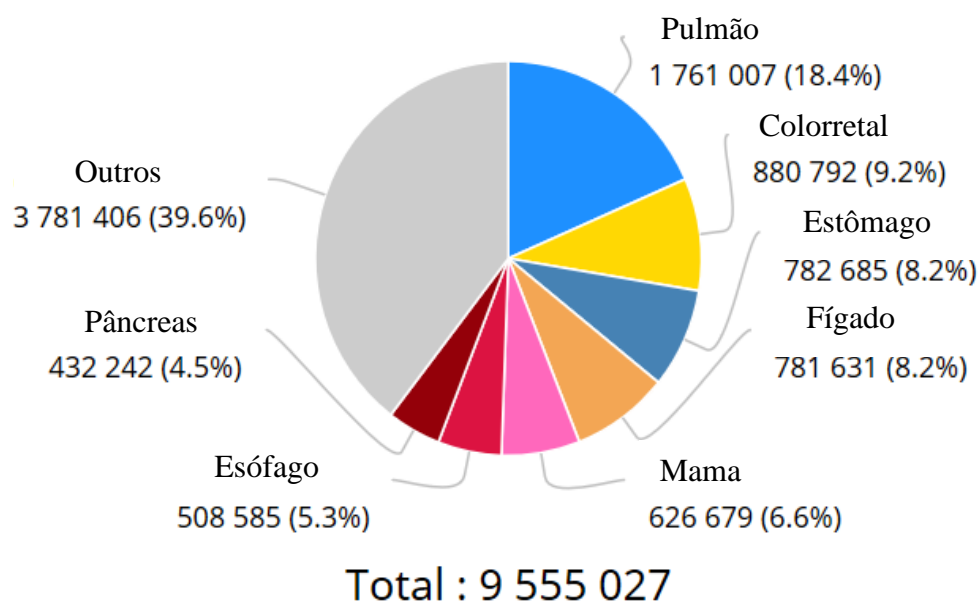


Figura 2 – Número estimado de mortes devido a todos os tipos de cancro, em 2018, no mundo, em ambos os sexos e em todas as idades. Fonte: GLOBOCAN 2018 (8)

O cancro do pulmão, o cancro da próstata e o cancro colorretal correspondem a cerca de 40% de todos os novos casos em homens (6,8,9), com uma incidência de 14,5%, 13,5% e 10,9%, respetivamente (6,8). Por outro lado, as neoplasias que apresentam maior mortalidade no homem são o cancro do pulmão – 22% –, o cancro do fígado – 10,2% – e o cancro do estômago – 9,5% (6,8).

No entanto, no sexo feminino, o cancro da mama é o que apresenta maior incidência – 24,2% –, com mais de dois milhões de novos casos em 2018 (6–9), sendo também o mais mortal entre as mulheres – 15,0% (6,8). A seguir ao cancro da mama, o cancro colorretal – incidência de 9,5% – e o cancro do pulmão – incidência de 8,4% – são as doenças oncológicas mais comuns na mulher com uma mortalidade de 9,5% e de 13,8%, respetivamente (6,8,9).

Em países com IDH elevado, os cancros de pulmão, mama, próstata e colorretal são os principais tipos de tumores incidentes. Por outro lado, nos países com IDH mais reduzido, os cancros da mama, pulmão e colorretal têm vindo a aumentar a sua incidência, embora também exista um grande número de cancros relacionados com a carência económica e infeções, como as neoplasias do estômago, fígado, colo do útero e esófago (10).

1.1.2 Cancro em Portugal

Estima-se que em 2018 surgiram 58.199 novos casos de cancro em Portugal, entre os quais, 32.475 novos casos em homens e 25.724 novos casos em mulheres. Para além disso, nesse mesmo ano, morreram 28.960 pessoas em Portugal vítimas de cancro: 17.607 homens e 11.353 mulheres. Desses novos casos, 12,0% dizem respeito ao cancro da mama, correspondendo a 6974 novos casos (Figura 3). Nesse mesmo ano, morreram 1748 doentes vítimas de cancro da mama, um valor correspondente a 6,0% do total do número de óbitos causados por doenças oncológicas (Figura 4). Deste modo, é possível constatar que o cancro da mama é a segunda doença oncológica com maior incidência em Portugal, a seguir ao cancro colorretal, e que é a quinta doença oncológica mais mortal no país (8).

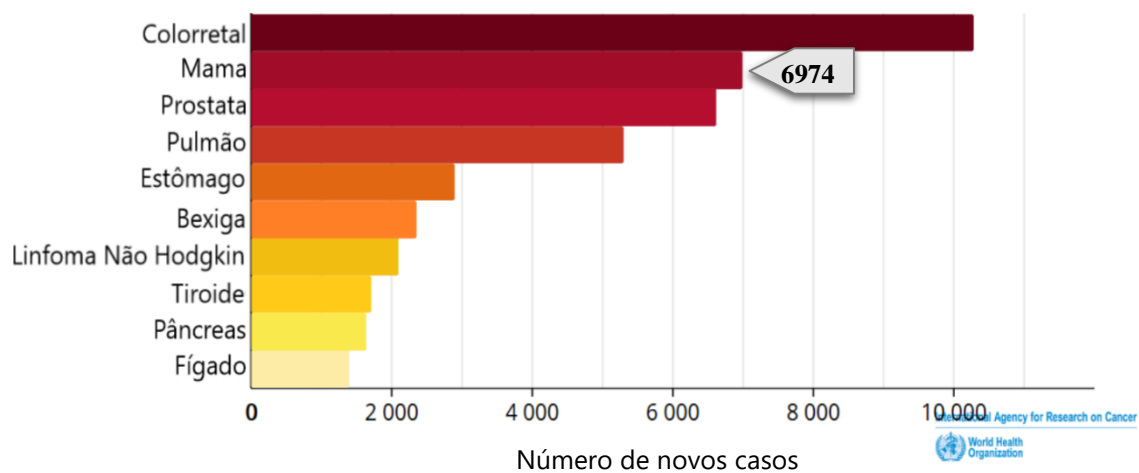


Figura 3 – Número estimado de novos casos de cancro, em 2018, em Portugal, em ambos os sexos e em todas as idades. Fonte: GLOBOCAN 2018 (8)

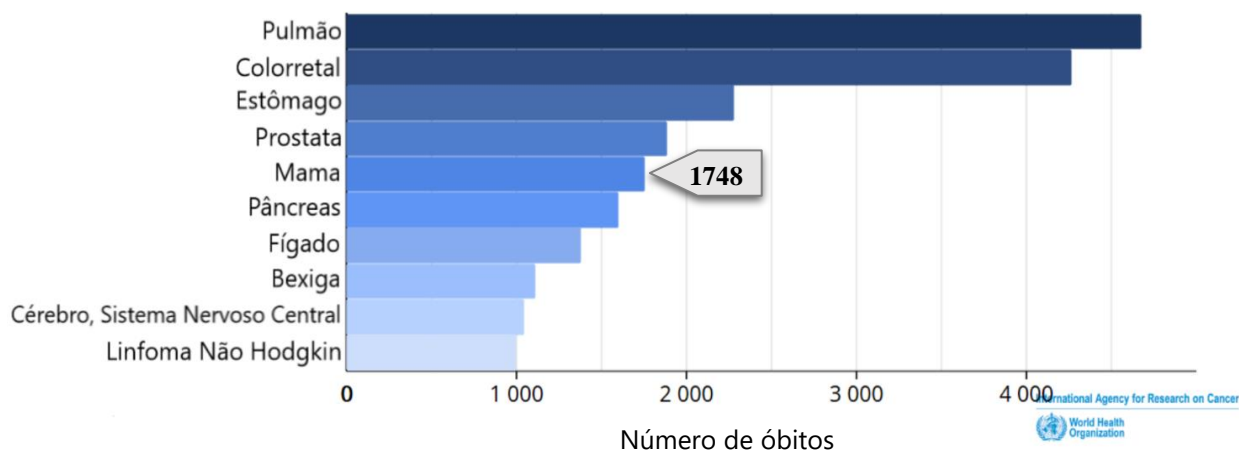


Figura 4 – Número estimado de mortes causadas por diversos tipos de cancro, em 2018, em Portugal, em ambos os sexos e em todas as idades. Fonte: GLOBOCAN 2018 (8)

1.2 Etiologia do Cancro

A causa de grande parte dos cancros é desconhecida. No entanto, existem diversos fatores, genéticos e ambientais, que contribuem para a génese das neoplasias (1), por serem potenciais indutores de erros no ADN (11). Estas podem originar-se em diferentes localizações do genoma e o seu comportamento clínico é muito variável (1). De um modo geral, a desregulação da reparação de ADN danificado está na base do desenvolvimento de diferentes tipos de cancro (11,12).

1.2.1 Fatores Genéticos e Ambientais

Determinados fatores como o tabaco, obesidade e infeções são apenas uma parte de um grande conjunto de outros agentes e fatores de risco envolvidos no desenvolvimento de cancro. Alguns destes fatores de risco não são modificáveis, como é o caso da raça, antecedentes genéticos familiares e história reprodutiva e hormonal. Por outro lado, poderá existir exposição a substâncias cancerígenas resultantes do estilo de vida ou resultantes de uma exposição não intencional: exposições ocupacionais, efeitos da poluição e utilização de determinados alimentos, substâncias ou fármacos (10).

Desta forma, é possível afirmar que a etiologia do cancro da mama é multifatorial. O seu aparecimento poderá depender de fatores endócrinos e reprodutivos, como a nuliparidade e ser mãe do primeiro filho após os 30 anos de idade; e fatores ambientais, como o consumo de álcool e a exposição a radiação ionizante. Para além disso, o estilo de vida também assume um papel importante na contribuição para o desenvolvimento do cancro da mama, através de hábitos como uma alimentação hipercalórica, por exemplo (10).

Uma pequena porção dos casos de cancro da mama deve-se a uma predisposição genética. Se determinados genes, como *BRCA1* e *BRCA2*, sofrerem mutações, o risco de desenvolvimento de cancro da mama aumenta significativamente. Estima-se que a prevalência desta neoplasia em portadoras de mutações germinativas nestes genes seja dez a trinta vezes superior do que em indivíduos que não herdaram estes erros no ADN (2,10).

1.2.2. Papel da Mutagénese no Cancro

A preservação da sequência do genoma é importante para a continuação das espécies. Porém, as mutações nem sempre são um processo negativo pois contribuem para a evolução, através da variação genética (12). Algumas delas apresentam aspetos positivos, como é o caso da anemia falciforme, causada por uma mutação que confere uma forma anormal, rígida e falciforme aos eritrócitos. Esta mutação possui uma ação protetora contra a doença da malária, especialmente nas populações africanas (13). As mutações traduzem-se em alterações na sequência nucleotídica primária da molécula de ADN, sendo transmissíveis à descendência. Estas podem ser causas intrínsecas de diversas doenças.

Podem ocorrer quer nas regiões codificantes – exões –, quer nas regiões não codificantes – intrões, região promotora, região 3'UTR ou regiões entre genes. Geralmente, as mutações nas regiões codificantes levam a doenças genéticas. Quando a mutação ocorre na região promotora, que controla a transcrição, a proteína produzida será a mesma, porém, será produzida em maior ou menor quantidade que o expectável, alterando o nível de expressão do gene. Por outro lado, as mutações nos intrões poderão levar a alterações nos sítios de *splicing*, resultando na retenção de um intrão ou exclusão de um exão.

As mutações não levam necessariamente ao aparecimento de uma doença genética, não obstante, poderão causar maior suscetibilidade para diversas doenças, como o cancro. É o caso dos polimorfismos, como SNP, sequências nucleotídicas num determinado *locus* que apresentam mais de uma variante alélica com frequência superior a 0,01, não sendo consideradas alterações patogénicas (14).

1.3 Danos e Vias de Reparação do ADN

O ADN é uma molécula extremamente propensa a sofrer alterações causadas por agentes endógenos e exógenos, como espécies reativas de oxigénio ou radiações ionizantes, respetivamente. (11,12) Para além disso, as ADN polimerases envolvidas na replicação e

reparação do material genético cometem erros, acabando por sobrecarregar as células com mutações não benéficas. Felizmente, as células possuem estratégias para reduzir as consequências nefastas dos danos. Estas incluem a reparação de ADN, pontos de controlo do ciclo celular e vias de morte celular programada (12). As principais vias de reparação de ADN incluem a reparação por excisão de bases, por excisão de nucleótidos, reparação de erros de emparelhamento, recombinação homóloga e união terminal não-homóloga (12).

2. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo a abordagem do tema cancro hereditário, mais especificamente do cancro da mama hereditário, enunciando e descrevendo os fatores que influenciam a suscetibilidade a esta doença. O seu intuito é explicar esses fatores que levam ao aumento do risco de aparecimento da doença em determinadas populações e discutir temáticas como medidas de rastreio, de prevenção e de terapêutica direcionada. Para além disso, tem como propósito a consciencialização da importância da adoção dessas medidas, por serem de extrema importância para uma menor incidência de cancro da mama e para um aumento da qualidade de vida.

3. Materiais e Métodos

Para a realização deste trabalho, recorreu-se essencialmente à base de dados *PubMed* e à consulta da sua literatura biomédica, como artigos científicos. Também foram consultados livros desenvolvidos por profissionais médicos especializados em oncologia, nomeadamente em cancro da mama. Foram incluídas na pesquisa bibliográfica recomendações e guidelines de tratamento estabelecidas por entidades portuguesas e internacionais reconhecidas na área da saúde, algumas destas mais direcionadas para o campo da oncologia. De forma a enriquecer as informações referentes a determinadas opções terapêuticas, foram consultados diversos Resumos das Características do Medicamento, desenvolvidos pela EMA e disponíveis na base

de dados de medicamentos Infomed. *Websites* de organizações, associações ou laboratórios reconhecidos também foram consultados como forma de complementar a informação obtida através da literatura. Não foram adotados critérios específicos para a inclusão das fontes, no entanto, foram privilegiadas as fontes mais recentes aquando da realização da pesquisa bibliográfica.

Os principais conceitos pesquisados foram *Hereditary Breast Cancer*, *Breast Cancer Gene Panel*, *BRCA1 and BRCA2*, *Familial Breast Cancer Screening*, *Hereditary Breast Cancer Treatment*.

4. Resultados e Discussão

4.1 Classificação do Cancro da Mama

De uma forma geral, existem dois grandes tipos de cancro da mama: cancro da mama hereditário e cancro da mama esporádico. O cancro da mama hereditário está relacionado com a existência de suscetibilidade herdada, ou seja, envolve diversas mutações germinativas em determinados genes, como por exemplo, em genes supressores de tumor. Geralmente, este tipo de cancro da mama desenvolve-se em idades mais jovens, antes da menopausa. Por outro lado, o cancro da mama esporádico, que corresponde à maioria dos casos, desenvolve-se devido a uma acumulação de mutações adquiridas em genes somáticos que não foram devidamente reparadas (11).

4.1.1 Padrão de Expressão Genética

O cancro da mama pode também ser classificado molecularmente de acordo com o seu padrão de expressão genética (15). Esta classificação baseia-se na presença ou ausência de recetores de estrogénio, recetores de progesterona e recetores do fator de crescimento epidérmico (11).

Desta forma é possível organizar os tumores em três grandes grupos distintos,

representados na Tabela 1: positivo para recetores hormonais; negativo para recetores hormonais com sobre-expressão de HER2 (pertencente à família humana de EGFR), proteína envolvida no crescimento e divisão celular (16); e triplos negativos, em que não existe expressão aumentada de nenhum dos recetores.

Tabela 1 – Classificação Molecular: Subtipos distintos do cancro da mama, baseados no padrão de expressão genética (15,17,18)

Subtipo de Cancro	Recetor Estrogénio (ER)	Recetor Progesterona (PgR)	HER2	Proteína Ki-67 (% células neoplásicas imunomarcadas)
Luminal A	+	+	—	< 14%
Luminal B1	+	+	—	≥ 14%
Luminal B2	+	+	+	
HER2 positivo	—	—	+	
Triplo negativo <i>basal-like</i>	—	—	—	

Dentro da classe positivo para recetores hormonais, inserem-se os subtipos luminal A e luminal B, que se distinguem entre si através do índice de proliferação celular, uma vez que o subtipo luminal B apresenta um valor mais elevado e, consequentemente, um pior prognóstico, quando comparado com o luminal A (17). Este parâmetro é obtido por via do índice mitótico Ki-67, em que a expressão da proteína Ki-67 é avaliada pela percentagem de núcleos marcados por imuno-histoquímica, de modo a determinar a fração de células em proliferação (15,17).

O cancro luminal B engloba os subtipos B1 e B2, sendo HER2 negativo e HER2 positivo, respetivamente (17,18). Normalmente, as neoplasias positivas para recetores hormonais, em especial as do subtipo luminal A, são sensíveis à terapêutica com inibidores da aromatase, como o Letrozol, e com MSREs, como o Tamoxifeno (11,17). Este tipo de neoplasia apresenta um crescimento mais lento e menor probabilidade de atingir os gânglios linfáticos (16).

No cancro da mama HER2 positivo, em que existe um aumento da expressão da proteína HER2, as células são estimuladas para se dividirem mais rapidamente, existindo um maior risco de metastização (19). Neste tipo de cancro da mama, que é negativo para os recetores hormonais e existe uma sobre-expressão de HER2, pode-se incluir Trastuzumab no seu tratamento (11,17). Este fármaco é um anticorpo monoclonal IgG1 que inibe a ativação do HER2, através da sua ligação ao domínio extracelular do HER2. Desta forma, inibe a proliferação de células neoplásicas com sobre-expressão do HER2. (20) Se este fármaco for ineficaz, sugere-se a utilização de Lapatinib, um inibidor da tirosina cinase que atua no domínio intracelular de HER2, inibindo o crescimento das células tumorais associadas a HER2 (17,21).

Por outro lado, os casos de cancro triplo negativo, que englobam os carcinomas *basal-like* (15), apresentam pior prognóstico, tendo a particularidade de reincidir e desenvolver metástases de forma mais agressiva (11).

4.1.2 Estadiamento

O estadiamento tem como objetivo avaliar a extensão do tumor. Esta estratégia é importante a nível de prognóstico e também para selecionar as opções de tratamento mais adequadas. Para isso, é utilizada a nomenclatura TNM: T – dimensão do tumor (Tabela 2A); N- atingimento dos gânglios regionais (Tabela 2B); M- metástases à distância (Tabela 2C). (22)

Tabela 2A – Classificação TNM – Dimensão do Tumor. Fonte: DGS – Recomendações Nacionais para Diagnóstico e Tratamento do Cancro da Mama (22)

CLASSIFICAÇÃO TNM: T – DIMENSÃO DO TUMOR		
TX	O tumor primário não pode ser avaliado	
T0	Sem evidência do tumor primário	
TIS	Carcinoma in situ: carcinoma intraductal, carcinoma lobular in situ ou doença de Paget do mamilo sem tumor adjacente	
T1	Tumor menor ou igual a 2 cm	
	T1 mic	microinvasão numa extensão inferior a 1 mm
	T1a	Tumor menor que 0.5 cm
	T1b	Tumor maior que 0.5 cm mas menor que 1 cm
	T1c	Tumor maior que 1 cm mas menor que 2 cm
T2	Tumor maior que 2 cm mas menor que 5 cm	
T3	Tumor maior que 5 cm	
T4	Tumor de qualquer tamanho com extensão direta para a parede torácica e/ou pele	
	T4a	Tumor com extensão à parede torácica
	T4b	Edema (incluindo pele em casca de laranja) ou ulceração da pele ou nódulos cutâneos satélites confinados à mama homolateral
	T4c	T4a + T4b
	T4d	Carcinoma inflamatório

Tabela 2B – Classificação TNM – Atingimento dos Gânglios Linfáticos Regionais. Fonte: DGS – Recomendações Nacionais para Diagnóstico e Tratamento do Câncer da Mama (22)

CLASSIFICAÇÃO TNM: N – ATINGIMENTO DOS GÂNGLIOS LINFÁTICOS REGIONAIS

NX	Gânglios linfáticos regionais não podem ser avaliados (ex: previamente excisados)
N0	Sem evidência de metástases em gânglios linfáticos regionais
N1	Gânglios linfáticos axilares homolaterais metastizados e móveis
N2	Gânglios linfáticos axilares homolaterais metastizados e fixos entre si (conglomerado) ou a outras estruturas, ou gânglios da cadeia mamária interna homolaterais com metastização clinicamente aparente sem evidência de metastização axilar
N2a	Gânglios linfáticos axilares homolaterais metastizados e fixos entre si (conglomerado) ou a outras estruturas
N2b	Gânglios da cadeia mamária interna com metastização clinicamente aparente sem evidência de metastização axilar
N3	Gânglios linfáticos infraclaviculares homolaterais metastizados, ou gânglios da cadeia mamária homolaterais interna com metastização clinicamente aparente com evidência de metastização axilar; ou gânglios linfáticos supraclaviculares homolaterais metastizados independentemente da presença de metastização axilar ou da cadeia mamária interna
N3a	Gânglios linfáticos infraclaviculares homolaterais e gânglios axilares metastizados
N3b	Gânglios da cadeia mamária interna homolaterais e gânglios axilares metastizados
N3c	Gânglios supraclaviculares homolaterais metastizados

Tabela 2C – Classificação TNM – Metástases à Distância. Fonte: DGS – Recomendações Nacionais para Diagnóstico e Tratamento do Cancro da Mama (22)

CLASSIFICAÇÃO TNM: M - METÁSTASES À DISTÂNCIA	
MX	As metástases à distância não podem ser avaliadas
M0	Sem metástases à distância
M1	Metástases à distância

De acordo com a classificação TNM atribuída, é possível enquadrar cada caso num estadio, de forma a facilitar a escolha de um tratamento mais adequado para cada doente, visível na Tabela 3. Os estadios classificam-se de I a IV, sendo o estadio IV o que apresenta pior prognóstico.

Tabela 3 – Agrupamento por diferentes estadios, após atribuição de classificação TNM. Fonte: DGS – Recomendações Nacionais para Diagnóstico e Tratamento do Cancro da Mama (22)

ESTADIO 0	Tis	N0	M0
ESTADIO I	T1*	N0	M0
ESTADIO IIA	T0	N1	M0
	T1*	N1	M0
	T2	N0	M0
ESTADIO IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0

ESTADIO IIIA	T0	N2	M0
	T1*	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
ESTADIO IIIB	T3	N2	M0
	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
ESTADIO IIIC	T4	N2	M0
	qqT	N3	M0
ESTADIO IV	qqT	qqN	M1

*T1 inclui o T1 mic

4.2 Cancro da Mama Hereditário

As síndromes de cancro hereditário surgem de uma mutação na linha germinativa, herdada de um dos progenitores, levando a um aumento significativo do risco de desenvolvimento de cancro em relação ao da população que não possua uma mutação num gene conhecido por aumentar a suscetibilidade ao cancro (23). As mutações genéticas hereditárias desempenham um papel significativo em cerca de 5 a 10 por cento de todas as neoplasias (24,25). Determinadas mutações em genes específicos foram associadas a mais de 50 síndromes de cancro hereditário, que correspondem a distúrbios que poderão predispor para o desenvolvimento de determinados tipos de cancro (25). Estes indivíduos representam uma população única de doentes com um número crescente de opções terapêuticas (24).

Os casos de cancro da mama hereditário caracterizam-se pela idade jovem aquando do diagnóstico, sendo que também poderão existir na família membros do sexo feminino que apresentem cancro dos ovários ou cancro da mama bilateral e membros do sexo masculino com cancro da mama (26).

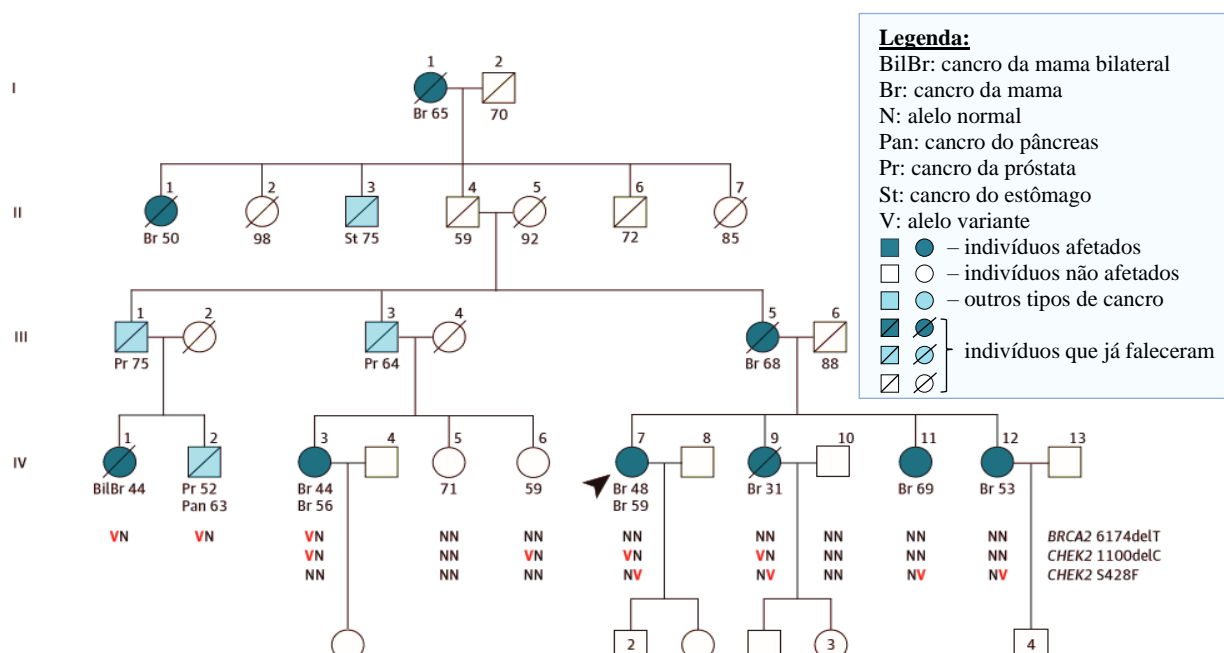


Figura 5 – Estudo sobre cancro da mama hereditário numa família de Nova Iorque, identificada com 3 mutações em 2 genes de predisposição para o cancro da mama (27)

Na figura 5 encontra-se representado um exemplo de uma família com vários casos de cancro hereditário relacionado com a existência de mutações em genes que aumentam a suscetibilidade para o cancro – *BRCA2* e *CHEK2*. O indivíduo destacado pela seta (IV-7) retrata uma senhora cujo primeiro diagnóstico de cancro da mama fora aos 48 anos de idade, com reincidência aos 59 anos. Apesar de não apresentar a mutação no gene *BRCA2*, ao contrário das suas primas IV-1 e IV-3, é portadora de duas mutações no gene *CHEK2*. As irmãs IV-9, IV-11 e IV-12, também afetadas pelo cancro da mama, apresentam, pelo menos, uma destas mutações. Quanto à geração mais nova, devido à elevada probabilidade de também apresentarem, no mínimo, uma das três mutações presentes na família, devem ser aconselhadas a realizar o teste genético para confirmação e adotar métodos de rastreio e/ou de profilaxia adequados ao seu genótipo (27).

4.3 Painéis Genéticos

A grande maioria dos casos de cancro da mama hereditário deve-se a uma mutação num dos genes altamente penetrantes do painel genético referente a este tipo de cancro – *BRCA1*, *BRCA2*, *PTEN*, *TP53*, *CDH1* e *STK11*. Para além destes, as mutações em genes de penetrância moderada, como *PALB2*, *ATM*, *BRIP1* e *CHEK2*, também são responsáveis por casos de cancro da mama hereditário, embora em menor número. Estima-se que estas mutações de genes de penetrância moderada sejam responsáveis por 2 a 3% dos casos de cancro da mama hereditário (28).

As diferenças de penetrância dos genes estão relacionadas com o seu risco relativo de desenvolvimento de um determinado tipo de cancro. Os genes altamente penetrantes apresentam um risco relativo de cancro superior a 5 enquanto que, os genes de reduzida penetrância apresentam um risco relativo de cerca de 1,5. Todos os restantes genes que possuem um risco relativo entre 1,5 e 5 estão classificados como genes moderadamente penetrantes (29). Os alelos de alta penetrância geralmente conferem risco de cancro da mama superior a 50%, suficiente para justificar a adoção de intervenções para reduzir o risco (28).

Atualmente, através dos avanços da ciência e da tecnologia, já é possível estudar os genes em profundidade e de que modo estão relacionados com o desenvolvimento de neoplasias. Desta forma, consegue-se criar um painel genético de predisposição para o cancro (30).

Conhecer o risco genético de cancro é extremamente importante para aplicar medidas de prevenção específicas e mais personalizadas. Se estas forem aplicadas na prática clínica em indivíduos de elevado risco, é possível prevenir a doença ou diagnosticá-la precocemente (30). Para tal, é necessário realizar um teste genético que analisa todos os genes conhecidos por aumentar a suscetibilidade para diversos tipos de cancro (30,31). Este exame está indicado em indivíduos com vários parentes próximos que tenham desenvolvido o mesmo tipo de cancro, vários tipos de cancro, cancro nos órgãos pares, como em ambas as mamas, por exemplo, ou casos raros de um determinado tipo de doença maligna, como o cancro da mama em indivíduos do sexo masculino. Também existe indicação para indivíduos pertencentes a um grupo racial no qual exista uma maior probabilidade de desenvolvimento de determinada síndrome de cancro hereditário (31). Os indivíduos que desejem conhecer a sua predisposição genética para o cancro hereditário também podem sujeitar-se ao teste genético (30).












É de extrema importância a identificação de indivíduos e/ou famílias com probabilidade de desenvolverem cancro da mama hereditário e a sua referenciação para consultas de risco familiar de cancro e oncogenética, de modo a orientar e aconselhar da melhor forma possível. Este processo é determinante no prognóstico, na escolha da terapêutica mais adequada e no acesso a medidas de rastreio e de redução de risco (32).









Assim, os painéis genéticos são ferramentas essenciais, uma vez que permitem a identificação de indivíduos com maior suscetibilidade para o cancro, tornando-se possível efetuar uma melhor vigilância e prevenção da neoplasia. Sabendo que, nestas patologias, o diagnóstico precoce é essencial, juntamente com tratamentos cada vez mais direcionados e personalizados, consegue-se atingir taxas de cura mais elevadas e, simultaneamente, aumentar a qualidade de vida (31). Através do conhecimento da suscetibilidade genética de um indivíduo, também é possível gerir de melhor forma a situação clínica do portador. Isto inclui desde

medidas de rastreio e medidas de redução de risco, até um tratamento mais personalizado. Para além disso, através da realização de DGPI, a suscetibilidade genética para o desenvolvimento de cancro da mama não irá afetar as gerações futuras (29).

Existem vários testes genéticos disponíveis para a identificação de mutações em genes associados a uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento do cancro da mama. Em Portugal, existe um Instituto de Estudos Celulares e Moleculares – GENETYCA ICM – que possibilita a realização de testes genéticos através do estudo de dois painéis de predisposição para diversos tipos de cancro, um masculino e outro feminino. É um laboratório cujo objetivo é tornar a genética numa ferramenta acessível e útil na personalização de diagnósticos e tratamentos, através da sua aplicação na prevenção de doenças genéticas (31). Na Tabela 4, encontram-se selecionados os genes estudados no painel de cancro da mama em mulheres e em homens.

Tabela 4 – Painel de Cancro da Mama Feminino e Masculino. Fonte: GENETYCA ICM – Instituto de Estudos Celulares e Moleculares (31)

Mama (Mulher)	Genes de Predisposição para o Cancro	Mama (Homem)
	<i>APC</i>	
	<i>ATM</i>	
	<i>AXIN2</i>	
	<i>BARD1</i>	
	<i>BMPR1A</i>	
	<i>BRCA1</i>	
	<i>BRCA2</i>	
	<i>BRIP1</i>	
	<i>CDC73</i>	
	<i>CDH1</i>	
	<i>CDK4</i>	
	<i>CDKN1B</i>	
	<i>CDKN2A</i>	
	<i>CHEK2</i>	
	<i>EPCAM</i>	
	<i>EXT1</i>	
	<i>EXT2</i>	
	<i>FH</i>	
	<i>FLCN</i>	
	<i>MAX</i>	
	<i>MEN1</i>	
	<i>MET</i>	
	<i>MLH1</i>	
	<i>MLH3</i>	
	<i>MRE11A</i>	

Mama (Mulher)	Genes de Predisposição para o Cancro	Mama (Homem)
	<i>MSH2</i>	
	<i>MSH6</i>	
	<i>MUTYH</i>	
	<i>NBN</i>	
	<i>NF1</i>	
	<i>NF2</i>	
	<i>NTRK1</i>	
	<i>PALB2</i>	
	<i>PMS1</i>	
	<i>PMS2</i>	
	<i>PTEN</i>	
	<i>RAD50</i>	
	<i>RAD51C</i>	
	<i>RB1</i>	
	<i>RET</i>	
	<i>SDHAF2</i>	
	<i>SDHB</i>	
	<i>SDHC</i>	
	<i>SDHD</i>	
	<i>SMAD4</i>	
	<i>STK11</i>	
	<i>TMEM127</i>	
	<i>TP53</i>	
	<i>VHL</i>	

O laboratório GENETYCA ICM estuda a suscetibilidade ao cancro da mama e ao cancro dos ovários através do teste FEEL, que analisa os genes *BRCA1* e *BRCA2*, incluindo uma mutação fundadora portuguesa no gene *BRCA2*, responsável por cerca de 30% das mutações *BRCA* em Portugal (c.156_157ins Alu). Para testar mais genes de predisposição para o cancro da mama e para o cancro dos ovários, o laboratório também disponibiliza o teste FEEL Plus, que examina outros genes para além de *BRCA1* e *BRCA2*. Ambos os testes utilizam a tecnologia NGS para a análise dos genes (31).

4.3.1 Genes de Elevada Penetrância

4.3.1.1 *BRCA1* e *BRCA2*

BRCA1 (17q12–21) e *BRCA2* (13q12-13) são os primeiros genes que foram associados ao cancro da mama hereditário. Estes são genes de elevada penetrância, característica que poderá depender de diversos fatores como o tipo de mutação e fatores exógenos. Os genes *BRCA1* e *BRCA2* têm ação supressora de tumor, auxiliando a regulação da divisão celular (24,29,33). São importantes na manutenção da estabilidade genómica pois estão envolvidos na sinalização de danos no ADN e também na sua reparação. *BRCA1* e *BRCA2* participam no processo de reparação de quebras de cadeias duplas pela via da recombinação homóloga (29,33). O gene *BRCA1* codifica uma fosfoproteína que apresenta ação supressora de tumor e as mutações neste gene estão geralmente relacionadas com os casos de cancro triplo negativos (29) e luminal B (34). Geralmente possuem características de um padrão de expressão genética "*basal-like*" (33,35). O diagnóstico de cancro da mama triplo negativo numa mulher jovem deve aumentar o nível de suspeita de presença de uma mutação *BRCA1*, mesmo que não possua uma história familiar significativa de cancro da mama ou dos ovários (35). Por outro lado, as mutações no gene *BRCA2* estão maioritariamente associadas ao tipo de cancro luminal B (34), sendo frequentemente positivas para o recetor de estrogénio (33,35), e a sobre-expressão do HER2 menos prevalente.

Quando existe uma mutação nestes genes, estes tornam-se inativos, levando ao crescimento descontrolado de células que poderá resultar em cancro da mama. Assim, mulheres que possuem mutações nos genes *BRCA1* e/ou *BRCA2* apresentam um risco muito superior de

desenvolver cancro da mama quando comparadas com mulheres sem mutações nestes genes: 46 a 60% em portadoras de mutação no gene *BRCA1* e 43% a 55% em portadoras de mutação no gene *BRCA2* (24,36). Se o portador pertencer ao sexo masculino, apresentará também risco aumentado, em cerca de duas vezes, de desenvolver cancro da próstata (23,36). Também o risco de reincidência se encontra aumentado: 40% em portadoras de mutações em *BRCA1* e 26% em portadoras de mutações em *BRCA2* (32). A sua transmissão ocorre de modo autossômico dominante (28).

A maior parte dos casos de cancro da mama hereditário são resultado de uma mutação na linha germinativa no gene *BRCA1* e/ou *BRCA2*, sendo a causa mais comum de cancro da mama hereditário (23,35). Para além disso, estima-se que uma em cada 980 pessoas possua uma mutação no gene *BRCA1* e que uma em cada 735 apresente uma mutação no gene *BRCA2* (28).

Atualmente, já foram descritas cerca de 1790 mutações, polimorfismos e variantes diferentes no gene *BRCA1* e cerca de 2000 no *BRCA2*. Os tipos mais comuns de mutações são pequenas deleções ou inserções ou mutações *nonsense*, levando ao truncamento de proteínas e, consequentemente, a proteínas não funcionais (33).

4.3.1.2 *TP53*

As mutações germinativas no gene supressor de tumor *TP53* (17p13.1) poderão levar ao desenvolvimento da síndrome de *Li-Fraumeni* (28,29,37). Estas transmitem-se de forma autossômica dominante, apresentando elevado risco de aparecimento de tumores em idades jovens. Para além de poderem estar envolvidas no desenvolvimento de cancro da mama, as mutações no gene *TP53* também podem estar associadas a outros tumores como cancro do sistema nervoso central, leucemia, cancro colorretal, cancro do ovário e melanoma (28,31). Tal como *BRCA1* e *BRCA2*, o gene *TP53* também é um gene de elevada penetrância. No entanto, apesar das mutações germinativas no gene *TP53* poderem levar a um risco mais elevado de desenvolvimento de cancro da mama, são menos frequentes que as mutações nos genes *BRCA1* e *BRCA2* (37). As mutações no gene *TP53* estão presentes em cerca de 25 – 30% de todos os casos de cancro da mama, estando associadas maioritariamente ao subtipo *basal-like* (38).

Este gene é responsável pela expressão da proteína TP53, que é ativada em resposta a estímulos como danos no ADN, levando à paragem do ciclo celular, reparação do ADN e apoptose, através da ativação de outros genes (37,38). Desta forma, desempenha um papel fundamental na regulação do crescimento celular (39). As mutações no gene *TP53* podem conferir um efeito de perda de função, deixando de existir estas medidas de proteção do ADN e predispondo para o desenvolvimento de cancro (38).

Os indivíduos com síndrome *Li-Fraumeni* devem evitar submeter-se a tratamentos de radioterapia, uma vez que apresentam uma resposta anormal à radiação em intensidades reduzidas, podendo aumentar o risco de aparecimento de tumores secundários (29).

4.3.1.3 *PTEN*

As mutações germinativas no gene *PTEN* (10q23.3) são autossómicas dominantes, sendo responsáveis pela síndrome de *Cowden*. Estas estão associadas a um maior risco de diversos tipos de cancro como o cancro da mama, cancro da tiróide e cancro colorretal e também a doenças benignas da mama como o fibroadenoma, por exemplo (28,29,31). Este gene é altamente penetrante. Estima-se que as mutações neste gene supressor de tumor representem um aumento do risco de desenvolvimento de cancro da mama entre 67 a 85% (40). A inativação do gene *PTEN* apresenta como consequências o crescimento, a proliferação e a migração celular, uma vez que este é responsável pela regulação da cascata de sinalização de AKT, uma proteína cinase, através da expressão de um inibidor de PI3K. Uma vez que PI3K é um ativador de AKT, e, por conseguinte, de toda a cascata, a ativação anormal deste mecanismo, leva ao aumento da sobrevivência das células através da redução da apoptose (41).

A diminuição de expressão de *PTEN* encontra-se maioritariamente associada ao cancro da mama negativo para os recetor hormonais de estrogénio e ao cancro da mama triplo negativo, estando também associado a um maior tamanho da massa tumoral (> 2cm) (41).

4.3.1.4 *STK11*

As mutações no gene supressor de tumor *STK11* (19p13.3), responsável pela mediação da apoptose e regulação do ciclo celular, são herdadas de modo autossómico dominante,

estando na origem à síndrome de *Peutz-Jeghers*, uma condição rara, com uma incidência de 1 em 50.000 a 1 em 200.000 indivíduos. Está associada a um aumento de risco do cancro da mama, do cancro gástrico e também do cancro colorretal (28,29,31). As mulheres que sofram da síndrome de *Peutz-Jeghers* apresentam um risco aumentado de desenvolvimento de cancro da mama em cerca de 50% (39). O rastreio clínico do cancro da mama deve ser iniciado aos 25 anos (28).

4.3.1.5 *CDH1*

O gene *CDH1* (16q22.1) codifica uma proteína – e-caderina – responsável pela adesão célula-célula, cuja expressão ocorre em junções entre células epiteliais. As mutações no gene *CDH1* levam a uma diminuição da adesão célula-célula e a um aumento da proliferação celular, devido à perda de função da proteína e-caderina (42). Deste modo, existe um aumento do risco de cancro, especialmente o da mama e também do cancro gástrico (28,29,31).

4.3.2 Genes de Penetrância Moderada

As mutações de perda de função na linha germinativa do gene *PALB2* (16p12.1) levam a um risco moderadamente mais elevado de cancro da mama. Estima-se que o risco cumulativo de cancro da mama em mulheres portadoras destas mutações seja 14% aos 50 anos de idade e 35% aos 70 anos. Este gene é responsável pela expressão de uma proteína que participa na reparação de quebras na cadeia dupla de ADN por recombinação homóloga, juntamente com *BRCA2*. Outros genes associados a um risco moderado de cancro da mama, e frequentemente sequenciados em ensaios de painel genético, são *ATM* (11q22.3), *RAD51C* (17q25.1), *BRIP1* (17q22–q24) e *CHEK2* (22q12.1) (28,29,43). De uma forma geral, a maioria destes genes está relacionada com o processo de manutenção da integridade do genoma e com os mecanismos de reparação do ADN (33).

O gene *ATM* (ataxia-telangiectasia) expressa uma proteína cinase relacionada com *PI3K*. Este gene encontra-se associado a diversas funções como a reparação de quebras nas cadeias duplas de ADN, um mecanismo que também envolve as proteínas expressas pelos genes

TP53, *BRCA1* e *CHEK2*. Os portadores de mutações no gene *ATM* devem evitar tratamentos de radioterapia devido a uma maior sensibilidade (29).

O gene *RAD51C* desempenha funções essenciais relacionadas com a reparação por recombinação homóloga (29). É responsável por promover a troca de cadeia do ADN. As mutações neste gene, para além de aumentarem a predisposição para o cancro da mama, também aumentam o risco de desenvolvimento de cancro do ovário (43).

A proteína codificada pelo gene supressor de tumor *BRIP1* participa em mecanismos de reparação através de interações com a proteína *BRCA1* (29,43).

CHEK2, *Checkpoint kinase 2*, é um gene supressor de tumor cuja ativação acontece após a ocorrência de danos no ADN. Este gene expressa uma serina-treonina cinase: *CHK2*. Está envolvido na reparação de ADN, regulação da apoptose e do ciclo celular. Na presença de danos no ADN, o gene é capaz de evitar que as células realizem o processo mitose. (44) A maior parte dos casos de cancro da mama com mutações no gene *CHEK2* são positivos para os recetores de estrogénio (39).

4.3.3 VUS

A principal limitação dos testes genéticos são os resultados inconclusivos devido a variantes de significado desconhecido. Estas são geralmente mutações *missense* (29). As alterações na linha germinativa estão classificadas como variantes benignas ou patogénicas. Quando o conhecimento atual não é suficiente para avaliar as suas consequências, definem-se como VUS (42). Deste modo, os resultados não fornecem informação com utilidade clínica. Através do método de NGS, cada vez mais genes são incluídos no teste genético, aumentando também o número de VUS detetadas. Com o aumento do conhecimento e novos dados acerca das VUS presentes em bases de informação, como por exemplo *Breast Cancer Information Core*, estas variantes podem ser reclassificadas. No entanto, é um processo que poderá levar vários anos (45).

Quando são detetadas VUS num teste genético, não é possível determinar se estas alterações aumentam o risco de desenvolvimento de cancro. A preocupação acerca das variantes está relacionada com a incerteza gerada, que poderá levar a sentimentos de ansiedade e também poderá sujeitar o indivíduo portador de VUS a tratamentos desnecessários. Por exemplo, uma portadora de uma determinada VUS que se sujeitou a uma mastectomia redutora de risco e, após alguns anos, essa variante veio a ser reclassificada como benigna. Foi observado que um resultado positivo para uma VUS poderá apresentar um impacto negativo a nível psicológico, uma vez que informação fornecida pelo especialista de que o teste é inconclusivo poderá causar stress e confusão nos portadores. Nalguns casos, os portadores não compreendem o significado do teste, podendo realmente pensar que apresentam uma maior suscetibilidade ao cancro (45).

Um dos grandes problemas que existe é aquando da reclassificação das VUS. Isto porque, muitas vezes, voltar a contactar os portadores é um processo complicado e moroso. Para ultrapassar esta barreira, recomenda-se que os portadores contactem o seu especialista anualmente para tomar conhecimento se ocorreu alguma alteração na classificação das VUS (45).

4.4 Impacto do teste genético – importância da intervenção psicológica

Antes de decidir a realização ou não do teste genético é necessário ponderar acerca do impacto emocional que este poderá ter na vida de uma pessoa e possibilitar o acesso ao apoio psicológico. A incerteza da possibilidade de ser portador de mutações associadas a uma maior predisposição para o desenvolvimento de cancro hereditário, poderá levar a sentimentos de vulnerabilidade. Por um lado, a realização do teste genético põe fim a essa incerteza. No entanto, se o resultado do teste determinar a existência de mutações em genes específicos, conhecidas por aumentar o risco do aparecimento de cancro, levará a consequências negativas a nível do estado psicológico, tanto no portador como na sua família. Poderá afetar decisões relacionadas com projetos futuros, podendo também surgir sentimentos de culpa devido à possibilidade do portador ter transmitido a mutação a descendentes. Além disso, o facto do portador ter conhecimento da possibilidade de vir a transmiti-la no futuro, poderá comprometer

a sua vida reprodutiva. Felizmente, nos dias de hoje, já é possível recorrer a DGPI, que deteta e previne a transmissão de doenças causadas por alterações genéticas e cromossómicas nos embriões, permitindo o nascimento de crianças sem doenças hereditárias. Uma vez que é um tema muito sensível, é fundamental reunir informações e debater as vantagens e desvantagens da decisão de realizar o teste com a equipa de saúde (32,46).

Caso o indivíduo venha a ser classificado como portador, é importante tomar as medidas necessárias de rastreio e profilaxia em vigor. Apesar destas medidas serem fundamentais para evitar o desenvolvimento de cancro hereditário ou, pelo menos, de o diagnosticar precocemente, poderão causar sentimentos de medo (32), ansiedade e stress nos portadores (47).

De forma a gerir estes sentimentos, é fundamental obter apoio psicológico adequado e adotar determinadas estratégias como ter em conta que os testes genéticos são probabilísticos e não indicam necessariamente o diagnóstico de cancro, ter um estilo de vida saudável e evitar ter pensamentos constantes acerca da possibilidade de vir a desenvolver a doença. Desta forma, a intervenção psicológica é fundamental para a diminuição do sofrimento e ansiedade e aparecimento de sentimentos negativos relacionados com o aumento do risco de desenvolver cancro hereditário, melhorando a qualidade de vida (32).

4.5 Rastreio e Profilaxia em indivíduos portadores de mutações

4.5.1 *BRCA1* e *BRCA2*

Após a deteção da presença de uma mutação nos genes *BRCA1/2*, é essencial definir as opções de rastreio adequadas para um diagnóstico precoce e medidas de redução de risco necessárias. Os indivíduos com mais de 25 anos de idade pertencentes a uma família conhecida por apresentar uma mutação nos genes *BRCA1/2* e que ainda não foram testados devem ser incentivados a realizar testes genéticos e, se o resultado para tais mutações for positivo, deve-se considerar aplicar as devidas medidas de redução de risco. Nos casos em que os indivíduos se recusam a submeter a testes genéticos, devem ser seguidas as recomendações de rastreio e as medidas de redução de risco aplicadas a portadores de mutação (23).

Diversos estudos observacionais sugeriram que a amamentação pode reduzir o risco de cancro da mama em portadoras de mutação nos genes *BRCA1/2*. Assim, de modo a diminuir o risco, a amamentação deve ser incentivada nesta população em especial.

Recomenda-se a realização de exame clínico da mama a cada 6 – 12 meses, a partir dos 25 anos de idade ou 10 anos antes do diagnóstico do caso mais jovem de cancro da mama na família. A ressonância magnética da mama é bastante útil no rastreio por ser uma ferramenta mais sensível para a população de alto risco. Aconselha-se a realização de ressonância magnética da mama anualmente a partir dos 25 anos de idade, com a complementação da mamografia a partir dos 30 anos. Caso a ressonância magnética não esteja disponível, poderá ser considerada a ecografia mamária como alternativa, sendo este exame um complemento à mamografia (23).

Como forma de prevenir o desenvolvimento do cancro em mulheres portadoras de uma mutação *BRCA1/2*, a mastectomia redutora de risco poderá ser uma opção a ponderar. Para além disso, uma outra opção seria a utilização de agentes redutores de risco como MSREs (tamoxifeno, raloxifeno) ou inibidores de aromatase (28). No entanto, o seu nível de evidência é fraco [LOE IV, GOR C] (23).

A mastectomia redutora de risco (RRM) é a estratégia mais eficaz para reduzir o risco de desenvolvimento de cancro da mama em portadoras de mutação *BRCA1/2*, sendo que reduz o risco em cerca de 90%, dependendo da técnica cirúrgica utilizada. A mastectomia total poderá ser realizada, tendo como alternativas a mastectomia poupadora de pele ou a mastectomia poupadora de mamilo, de modo a obter melhores resultados cosméticos, e deverá ser proporcionada a reconstrução mamária imediata. É imprescindível ter em consideração os benefícios, limitações, riscos de complicações cirúrgicas e impacto psicossocial para as portadoras durante todo o processo (23).

No caso dos portadores do sexo masculino, recomenda-se a realização de exame clínico da mama, anualmente, a partir dos 30 anos de idade, não existindo evidências para justificar a realização anual de outros exames complementares (23). Por outro lado, estes portadores

deverão realizar uma monitorização anual do PSA (antigénio específico da próstata) a partir dos 40-45 anos de idade, segundo as recomendações (32).

4.5.2 *TP53*

No caso da Síndrome de *Li-Fraumeni*, causada por mutações no gene *TP53*, é aconselhada a realização de exame clínico da mama, a cada 6 – 12 meses, a partir dos 20 – 25 anos de idade, e de ressonância magnética da mama anualmente entre os 20 e 75 anos de idade. Caso este exame não esteja disponível, também poderá ser considerada a realização de mamografia. Como estratégias preventivas ou redutoras de risco, deve-se evitar a exposição a radiações ionizantes, como por exemplo TC, propor DGPI antes de eventual gravidez, uma vez que deteta e previne a transmissão de doenças causadas por alterações genéticas, e também considerar a mastectomia de redução de risco (23,46). Uma vez que é em mulheres entre os 40 e 45 anos de idade que o risco que encontra mais elevado, a mastectomia bilateral não possui vantagens significativas em portadoras com mais de 60 anos (37).

4.5.3 *PTEN*

Na Síndrome de *Cowden*, ou seja, em caso de mutação no gene *PTEN*, também é aconselhado a realização de exame clínico da mama, a cada 6 – 12 meses, a partir dos 20 – 25 anos de idade, e de ressonância magnética da mama ou mamografia anualmente entre os 30 e 75 anos de idade. Como estratégias preventivas ou redutoras de risco, deve considerar-se a mastectomia de redução de risco e também a proposta de DGPI antes de uma eventual gravidez (23).

Se existir distrofia mamária significativa, pode ser recomendada a ressonância magnética da mama a partir dos 20 anos de idade e a mastectomia de redução de risco pode ser tida em conta a partir dos 25 ou 30 anos de idade (28).

4.5.4 *CHEK2, STK11, CDH1, PALB2 e ATM*

No caso de mutações nos genes *CHEK2*, *STK11*, *CDH1* ou *PALB2*, também é aconselhada a realização de exame clínico da mama, a cada 6 – 12 meses, a partir dos 20 – 25 anos de idade e de ressonância magnética da mama anualmente, a partir dos 20 anos de idade. Sendo que, este último exame pode ser substituído ou complementado por mamografia anual a partir dos 30 anos. No caso de portadoras de mutação nos genes *STK11*, *CDH1* ou *PALB2*, poderá ser considerada a mastectomia de redução de risco como estratégia de prevenção do aparecimento do cancro da mama. Nas mutações no gene *ATM*, aconselha-se a realização de ressonância magnética da mama anualmente como forma de rastreio (23).

4.6 Terapêutica Direcionada

A gestão da doença tem sempre como objetivos principais preservar a qualidade de vida, prolongando o tempo de vida esperado (2). O maior obstáculo do tratamento do cancro diz respeito à dificuldade na distinção entre células malignas e células saudáveis. Ambas possuem a mesma origem e são muito semelhantes, não existindo, por isso, reconhecimento por parte do sistema imunitário. O tratamento dos diversos tipos de cancro tem por base a utilização combinada de vários métodos como cirurgia, quimioterapia, hormonoterapia e radioterapia (1). É importante ter conhecimento se o cancro foi causado por uma mutação herdada, uma vez que tal poderá afetar as opções terapêuticas (48).

Os testes genéticos permitem a identificação de mutações germinativas que aumentam o risco de desenvolvimento do cancro da mama. Estas mutações estão associadas a características histopatológicas e moleculares distintas, que podem fornecer informação importante sobre alvos terapêuticos, melhorando tanto a morbilidade como a eficácia. Assim sendo, a identificação de indivíduos com estas mutações é relevante não só para o rastreio e profilaxia, como também para uma terapêutica mais adequada (24).

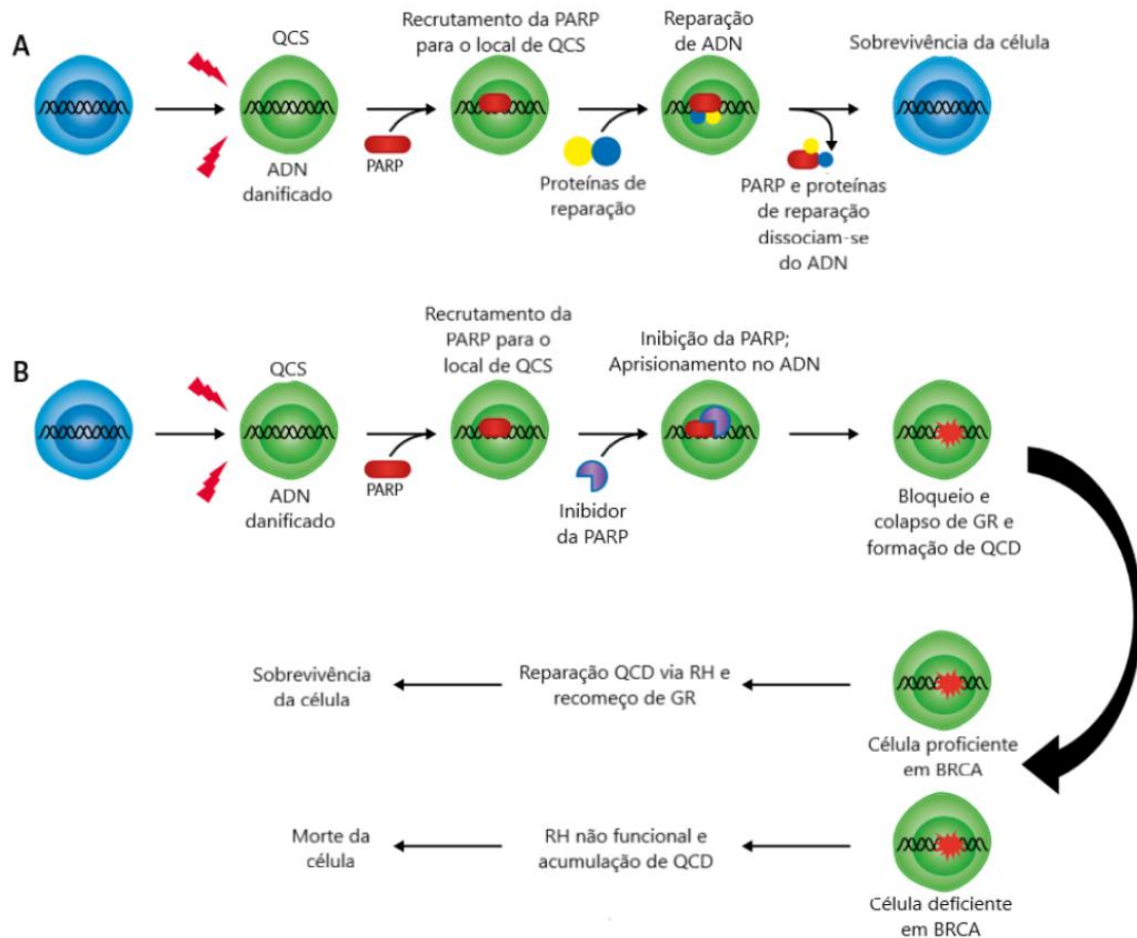
Para o tratamento do cancro da mama metastático causado por mutações nos genes *BRCA1/2*, estão indicados os inibidores das PARP: Olaparib e Talazoparib (48,49). O

medicamento Talazoparib deve ser utilizado em monoterapia para o tratamento do cancro da mama localmente avançado ou metastático e HER2 negativo (49).

O Olaparib é um forte inibidor das enzimas poli (ADP-ribose) polimerase humanas, tendo sido demonstrado *in vitro* a sua capacidade de inibição do crescimento de linhas celulares tumorais e, *in vivo*, do crescimento do tumor, seja em monoterapia ou em combinação com quimioterapias estabelecidas. Em doentes com deficiência em BRCA, demonstrou-se que a administração de Olaparib após tratamento com compostos de platina levou a um atraso na progressão do tumor e a um aumento da sobrevivência comparativamente ao tratamento com compostos à base de platina isoladamente (50).

Para além do Olaparib, a utilização do inibidor das enzimas PARP Talazoparib demonstrou a diminuição do crescimento tumoral e o aumento da apoptose nos tumores em doentes previamente tratados com antineoplásicos à base de platina (49).

As PARP são essenciais no processo de reparação das quebras na cadeia simples do ADN sendo que, para tal, é necessário que, após a modificação da cromatina, a PARP se automodifique e se dissocie do ADN de modo a facilitar o acesso às proteínas de reparação por excisão de bases. Quando o Olaparib se liga ao centro ativo da PARP associada ao ADN, evita esta dissociação e, consequentemente, bloqueia a reparação. Esta situação origina quebras nas cadeias duplas do ADN das células em replicação quando os garfos de replicação alcançam o complexo PARP-ADN, mecanismo representado na Figura 6. Nas células normais, a via de reparação por recombinação homóloga, que requer os genes *BRCA1* e *BRCA2* funcionais, é eficaz a reparar estas quebras nas cadeias duplas do ADN. No entanto, na ausência de *BRCA1* ou *BRCA2* funcionais, não é possível reparar as cadeias duplas do ADN utilizando a via de reparação por recombinação homóloga. Como alternativas, são ativadas outras vias mais propensas a erros, como a via de união de extremos não-homólogos, que leva a uma maior instabilidade genómica. Após várias rondas de replicação, a instabilidade genómica poderá alcançar níveis intoleráveis, levando à morte das células cancerígenas, tendo em conta que estas apresentam maior quantidade de ADN danificado relativamente às células normais (50).



QCS: quebra na cadeia simples; QCD: quebra na cadeia dupla; GR: garfo de replicação; RH: recombinação homóloga

Figura 6 – Reparação de quebras na cadeia simples de ADN através de recrutamento de PARP: A) Mecanismo de reparação de ADN com PARP e proteínas de reparação de ADN funcionais. B) Tentativa de reparação de quebras na cadeia simples de ADN na presença de inibidor de PARP, levando à formação de quebras na cadeia dupla. As células com BRCA funcional têm a capacidade de reparar as quebras na cadeia dupla, permitindo a sua sobrevivência. As células com deficiência em BRCA não conseguem reparar as quebras na cadeia dupla acumuladas, resultando em morte celular (51)

Antes de iniciar o tratamento com Olaparib ou Talazoparib, é necessário ter a confirmação da existência de uma mutação germinativa no gene de suscetibilidade do cancro da mama (*BRCA*) deletéria ou suspeita de deletéria, realizada por um laboratório certificado, utilizando um método de análise validado (49,50).

A perda da função *BRCA* em células malignas pode resultar numa maior sensibilidade a certos agentes, mais especificamente aos que induzem a quebra da cadeia dupla de ADN. Vários estudos *in vitro* associaram a diminuição da função *BRCA1* ou *BRCA2* ao aumento da sensibilidade a agentes como cisplatina (33,35), mitomicina, doxorrubicina e etoposídeo (35).

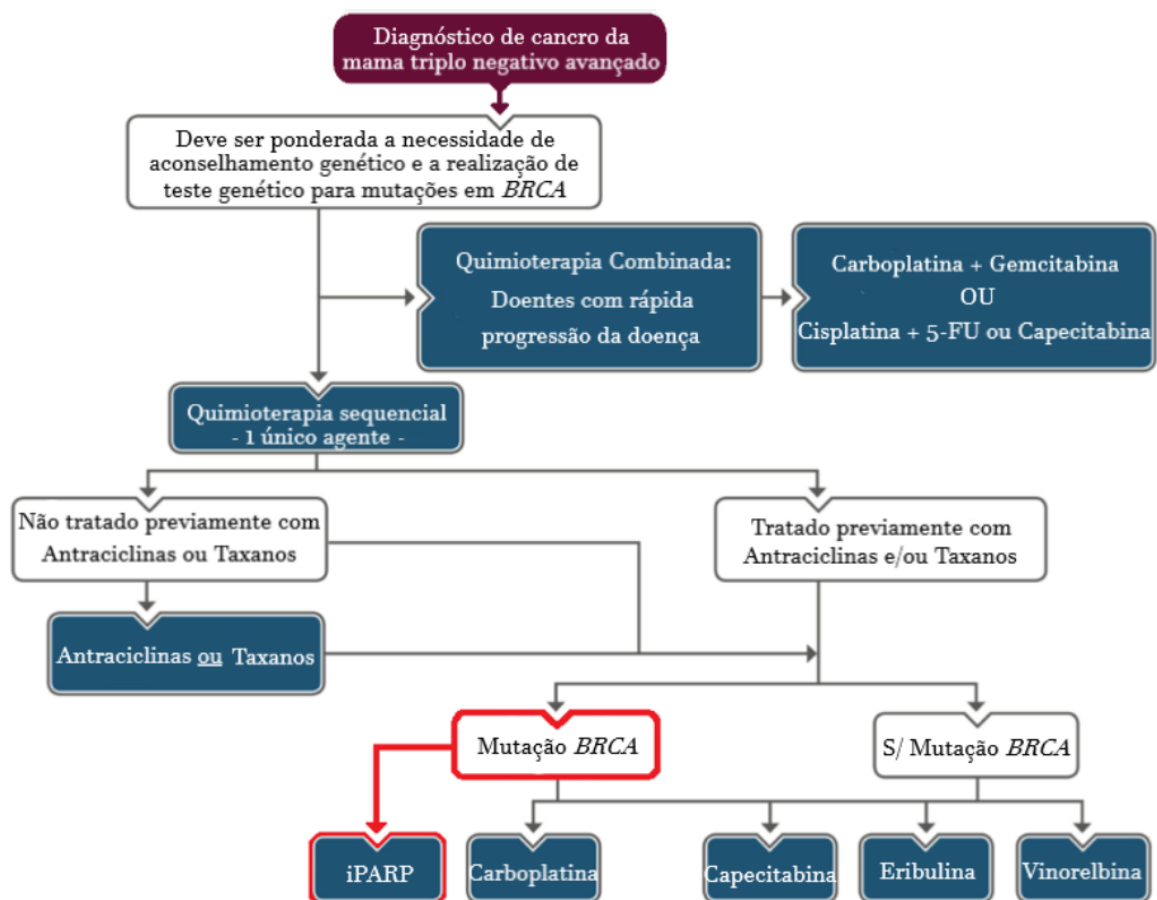
Como opções cirúrgicas, poder-se-á realizar mastectomia bilateral devido ao elevado risco de um segundo diagnóstico de cancro da mama (48). As portadoras de mutações nos genes *BRCA1/2* que não realizaram mastectomia bilateral podem submeter-se a uma ooforectomia para diminuir o risco do aparecimento de novos casos de cancro da mama. Para além disso, também reduzem o risco do desenvolvimento de cancro dos ovários que, por si só, encontra-se mais elevado nesta população (33,48).

5. Conclusões: Presente e Perspetivas Futuras

Os portadores de mutações em genes que aumentam a predisposição para o cancro devem procurar aconselhamento individual de modo a obter medidas de rastreio e de redução de risco adequadas, tendo em conta a sua história familiar. Além disso, quando possível, os membros da família que poderão também apresentar determinada mutação devem realizar o teste genético. Numa perspetiva futura, a crescente disponibilidade de estudos sobre o genoma poderá trazer novos conhecimentos acerca da suscetibilidade ao cancro da mama hereditário (23), incluindo a descoberta de novos genes associados a uma maior predisposição para a doença (29).

Com a existência de terapêutica direcionada para os casos de cancro com deficiência em *BRCA1* e *BRCA2*, utilizando cisplatina ou inibidores das PARP na prática clínica, os testes genéticos têm vindo a assumir um papel cada vez mais importante para identificar os doentes com cancro da mama com mutações nestes genes e, portanto, elegíveis para este tipo de terapêutica (33).

Atualmente, o tratamento com inibidores das PARP já é aplicado em casos de cancro da mama triplo negativo, em portadores de mutações nos genes *BRCA1/2*. Esta estratégia de tratamento é recomendada por *guidelines* desenvolvidas por ESO e ESMO, aprovadas por EUSOMA e ESTRO (Figura 7) (52).



© 2018 ESMO. All rights reserved. [esmo.org/Guidelines/ Breast-Cancer/4th-ESO-ESMO-International-Consensus-Guidelines-for-Advanced-Breast-Cancer-ABC-4](http://esmo.org/Guidelines/Breast-Cancer/4th-ESO-ESMO-International-Consensus-Guidelines-for-Advanced-Breast-Cancer-ABC-4)

Figura 7 – *Guidelines* ESO-ESMO para cancro da mama triplo negativo, agosto 2018 (52)

Apesar da investigação intensiva na área da genética, mais de 70% da suscetibilidade genética ao cancro da mama ainda é desconhecida. É improvável que algum gene de alta penetrância seja responsável por essa fração. Pelo contrário, estima-se que a predisposição restante seja explicada por diversas variantes raras de elevado risco e mecanismos que envolvam alelos de baixa penetrância ou genes raros de penetrância moderada, conferindo um risco elevado de cancro da mama.

Recentemente, as mutações na linha germinativa no gene *RAD51C* foram associadas a um aumento do risco de cancro da mama num reduzido número de casos, suportando esta

suposição de que parte dos casos de suscetibilidade genética por explicar esteja associada a variantes raras (33).

Uma vez que o cancro hereditário é o tipo de cancro que apresenta um maior potencial preventivo, é necessário informar e consciencializar a população acerca da importância da realização de testes genéticos, especialmente pelos indivíduos de risco, como por exemplo os que apresentam história familiar de cancro da mama, e da importância da implementação dos métodos de rastreio e de diminuição de risco (32). Além disso, é essencial melhorar a capacidade de resposta dos serviços de saúde de modo a que na prática clínica sejam adotadas opções terapêuticas mais individualizadas e eficazes.

6. Referências Bibliográficas

1. RON - Registo Oncológico Nacional [Internet]. Available from: <https://ron.min-saude.pt/pt/tumor/cancro/>
2. Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res*. 2017;1–23.
3. Nasif D, Campoy E, Laurito S, Branham R, Urrutia G, Roqué M, et al. Epigenetic regulation of ID4 in breast cancer : tumor suppressor or oncogene? 2018;1–14.
4. Liu X, Ding J, Meng L. Oncogene-induced senescence : a double edged sword in cancer. *Acta Pharmacol Sin* [Internet]. 2018;39(10):1553–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2017.198>
5. World Health Organization. WHO Guidelines for the Pharmacological and Radiotherapeutic Management of Cancer Pain in Adults and Adolescents. 2018.
6. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394–424.
7. WCRF. World Cancer Research Fund International. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective. 2018. p. <https://www.wcrf.org/>.
8. American Cancer Society. Global Cancer Observatory [Internet]. World Health Organization. 2015. Available from: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?mode=cancer&mode_population=continents&population=900&sex=0&cancer=29&type=0&statistic=0&prevalence=0&color_palette=default
9. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2019;69(1):7–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30620402>
10. World Health Organization. World Cancer Report 2014. Stewart BW, Wild CP, editors. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.

11. Majidinia M, Yousefi B. DNA Repair. 2017;54(March):22–9.
12. Damage DNA, Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA Damage, Repair, and Mutagenesis. 2017;00(March).
13. Yourgenome [Internet]. Available from: <https://www.yourgenome.org>
14. Mahdi KM, Nassiri MR, Nasiri K. Hereditary Genes and SNPs Associated with Breast Cancer. Asian Pacific J Cancer Prev. 2013;14(6):3403–9.
15. Vasconcelos AL, Ferreira AR, Sousa B, Loewenthal CS, Pinto D, Cardoso F, et al. 100 Perguntas Chave no Cancro da Mama. 2^a. Lisboa: Permanyer; 2017.
16. National Comprehensive Cancer Network, Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental. Cancro da mama. 2011;
17. Cirqueira MB, Moreira MAR, Soares LR, Freitas-Júnior R. Molecular subtypes of breast cancer. 2011;39.
18. Nowikiewicz T, Chmielowska E, Andrusewicz H, Łysik-miśkurka J, Głowacka I, Sowa M, et al. Prevalence of biological types of breast cancer and their influence on disease staging and therapeutic management – a single-center study. 2017;68(1):16–25.
19. Sheikh A, Hussain SA, Ghori Q, Naeem N, Giri S, Sathian B, et al. The Spectrum of Genetic Mutations in Breast Cancer. 2015;16:2177–85.
20. EMA. Anexo i resumo das características do medicamento: Herceptin.
21. EMA. Anexo i resumo das características do medicamento: Tyverb. :1–47.
22. Pimentel P, Oliveira C de, Cardoso MJ, Carvalho M de L, André S, Sousa JA de, et al. Recomendações nacionais para diagnóstico e tratamento do cancro da mama 09.
23. Cardoso F, Sessa C, Balmana J, Cardoso MJ, Gilbert F, Senkus E. clinical practice guidelines Prevention and screening in BRCA mutation carriers and other breast / ovarian hereditary cancer syndromes : ESMO Clinical Practice Guidelines for cancer prevention clinical practice guidelines. 2016;27(Supplement 5).
24. Parkes A, Arun BK, Litton JK. Systemic Treatment Strategies for Patients with Hereditary Breast Cancer Syndromes. Oncologist. 2017;22:1–12.
25. The Genetics of Cancer - National Cancer Institute [Internet]. Available from: <https://www.cancer.gov/>
26. Cao A, Huang L, Shao Z. The Preventive Intervention of Hereditary Breast Cancer. Adv Exp Med Biol. 2017;1026:41–57.
27. Walsh T, Mandell JB, Norquist BM, Casadei S, Gulsuner S, Lee MK, et al. Genetic Predisposition to Breast Cancer Due to Mutations Other Than BRCA1 and BRCA2 Founder Alleles Among Ashkenazi Jewish Women. 2017;1–7.
28. Rousset-jablonski C, Gompel A. Maturitas Screening for familial cancer risk : Focus on breast cancer. Maturitas. 2017;105(August):69–77.
29. Apostolou P, Fostira F. Hereditary Breast Cancer : The Era of New Susceptibility Genes. Biomed Res Int. 2013;2013.
30. LabcoNous. Painei de Cancro Familiar [Internet]. Available from: <http://www.labconous.com/Portugal/pt/Laboratorio/>
31. GENETYCA ICM [Internet]. Available from: <https://genetyca-icm.com/>

32. Abreu M, Brito M, Frutuoso C, Dupont J, Sousa G, Amaral S, et al. As Mutações BRCA e o Cancro. 2019;
33. Larsen MJ, Thomassen M, Gerdes A, Kruse TA. Breast Cancer : Basic and Clinical Research. 2014;145–55.
34. Larsen MJ, Kruse TA, Tan Q, Lænkholm A, Bak M, Lykkesfeldt AE, et al. Classifications within Molecular Subtypes Enables Identification of BRCA1 / BRCA2 Mutation Carriers by RNA Tumor Profiling. 2013;8(5).
35. Robson ME. Treatment of Hereditary Breast Cancer. 2007;31–5.
36. Brody LC. National Human Genome Research Institute Home - NHGRI [Internet]. Available from: <https://www.genome.gov/>
37. Schon K, Tischkowitz M. Clinical implications of germline mutations in breast cancer : TP53. Breast Cancer Res Treat. 2017;
38. Silwal-pandit L, Langerød A. TP53 Mutations in Breast and Ovarian Cancer. 2016;1–12.
39. Economopoulou P, Dimitriadis G, Psyrri A. Beyond BRCA : New hereditary breast cancer susceptibility genes. Cancer Treat Rev [Internet]. 2014;1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2014.10.008>
40. Ngeow J, Sesock K, Eng C. Breast cancer risk and clinical implications for germline PTEN mutation carriers. Breast Cancer Res Treat. 2015;
41. Li S, Shen Y, Wang M, Yang J, Lv M, Li P. Loss of PTEN expression in breast cancer : association with clinicopathological characteristics and prognosis. 2017;8(19):32043–54.
42. Corso G, Figueiredo J, Vecchia C La, Veronesi P, Pravettoni G, Macis D, et al. Hereditary lobular breast cancer with an emphasis on E-cadherin genetic defect. J Med Genet. 2018;55(7):431–41.
43. Sato K, Koyasu M, Nomura S, Sato Y, Kita M, Ashihara Y, et al. Mutation status of RAD51C, PALB2 and BRIP1 in 100 Japanese familial breast cancer cases without BRCA1 and BRCA2 mutations. 2017;1–8.
44. Apostolou P, Papasotiriou I. Current perspectives on CHEK2 mutations in breast cancer. 2017;331–5.
45. Mahon SM. Management of Patients with a Genetic Variant of Unknown Significance. Oncol Nurs Forum. 2015;42(3):316–8.
46. Diagnóstico Genético Pré-implantacional (DGPI) - IVI [Internet]. Available from: <https://ivi.pt/tratamentos-procriacao-assistida/dgp/>
47. Schroeder D, Conroy SA, Ed M, Phil D. Breast Cancer Genetic Testing: More Than a Medical Management Tool. 2015;19(5):603–7.
48. FORCE - Facing Our Risk of Cancer Empowered [Internet]. Available from: <https://www.facingourrisk.org/understanding-brca-and-hboc/information/cancertreatment/types-of-treatment/basics/hereditary-cancer-treatments.php>
49. EMA. Anexo i resumo das características do medicamento: Talzena. :1–43.
50. EMA. Anexo i resumo das características do medicamento: Lynparza. In p. 1–102.

51. Dziadkowiec KN, Gąsiorowska E, Nowak-markwitz E, Jankowska A. PARP inhibitors : review of mechanisms of action and BRCA1 / 2 mutation targeting. 2016;15(4):215–9.
52. Cardoso F, Senkus E, Costa A, Papadopoulos E, Aapro M, Harbeck N, et al. 4th ESO–ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 4). Ann Oncol. 2018;29(8):1634–57.